



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**“Actividad antifúngica in vitro y concentración
mínima inhibitoria mediante microdilución de ocho
plantas medicinales”**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Microbiología

AUTOR

Julio Reynaldo RUIZ QUIROZ

ASESOR

Mg. Mirtha ROQUE ALCARRAZ

Lima, Perú

2013

RESUMEN

Se determinó la actividad antifúngica in vitro de los extractos metanólicos, etanólicos e hidroalcohólicos de *Hypericum laricifolium* (partes aéreas), *Ilex guayusa* Loes (hojas), *Juglans neotropica* Diels (corteza), *Piper lineatum* (hojas), *Piper* spp. (hojas), *Psidium guajava* (hojas), *Cassia reticulata* Wild (planta entera) y *Terminalia catappa* (hojas); recolectadas en los departamentos de Amazonas y Cajamarca. La actividad antifúngica se evaluó mediante el método de difusión en agar frente a *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404 y *Microsporum canis* cepa clínica y la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por el método de microdilución colorimétrico, utilizando como controles ketoconazol y fluconazol.

Todos los extractos presentaron actividad antifúngica importante frente a *C. albicans* y *M. canis*, y ninguno tuvo actividad frente a *A. niger*. Las condiciones de laboratorio para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de *C. albicans* mediante el método de microdilución colorimétrico fueron: temperatura de incubación de 37°C, tiempo de incubación de 24 h, inóculo final 0,5-2,5 x 10³ ufc/mL y 0,05 mg de resazurina por pozo; y, para *M. canis* fueron temperatura de incubación de 37°C, tiempo de incubación de 4 días, inóculo final de 1,2 – 6 x 10⁴ ufc/mL y 0,05 mg de resazurina por pozo.

Mediante microdilución se determinó que 19 (79%), 18 (75%) y 24 (100 %) de los extractos investigados presentaron CMIs ≤ 1000 µg/mL, frente a *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* cepa clínica y *Microsporum canis*, respectivamente. Los extractos con la mayor actividad antifúngica fueron los de *Juglans neotropica* Diels, *Psidium guajava* y *Terminalia catappa*; con CMIs < 100 µg/mL. El método de microdilución colorimétrico usando resazurina demostró ser útil para el screening antifúngico de extractos de plantas.

Palabras clave: Actividad antifúngica, plantas medicinales, Amazonas, microdilución colorimétrica, concentración mínima inhibitoria, *Candida albicans* ATCC 10231, *Microsporum canis*, *Aspergillus niger* ATCC 16440

SUMMARY

I was determined the in vitro antifungal activity of ethanolic, methanolic and hydro-alcoholic extracts of *Hypericum laricifolium* (aerial parts), *Ilex guayusa* loes (leaves), *Juglans neotropica* Diels (bark), *Piper* spp. (leaves), *Piper lineatum* (leaves), *Psidium guajava* (leaves), *Cassia reticulata* Wild (whole plant) and *Terminalia catappa* (leaves); collected in the departments of Amazonas and Cajamarca. The antifungal activity was evaluated by the agar diffusion method against *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404, and the dermatophyte *Microsporum canis* clinical strain and the Minimum Inhibitory Concentration (CMI) by the microdilution colorimetric method, using as controls ketoconazole and fluconazole.

All of extracts showed antifungal activity against *C. albicans* and *M. canis* and no activity against *Aspergillus niger*. The laboratory conditions to determine the Minimum Inhibitory Concentration (CMI) of *Candida albicans* through the colorimetric microdilution method were: incubation temperature of 37°C, time of incubation of 24 h, final inoculums $0,5-2,5 \times 10^3$ cfu/mL and 0,05 mg de resazurin per well; and, for *Microsporum canis* were: incubation temperature of 37°C, time of incubation of 4 days, final inoculums $1,2-6 \times 10^4$ cfu/mL and 0,05 mg de resazurin per well.

For microdilution were determinited that 19 (79%), 18 (75%) y 24 (100%) of extracts investigated, showed MICs ≤ 1000 µg/mL, against *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* clinic strain and *Microsporum canis* respectively. The extracts with the best antifungal activity were those *Juglans neotropica* Diels, *Psidium guajava* and *Terminalia catappa*; with MICs < 100 µg/mL. The colorimetric microdilution method using resazurin proved useful for screening antifungal plant extracts.

Key words: Antifungal activity, medicinal plants, Amazonas, colorimetric microdilution, Minimal Inhibitory Concentration, *Candida albicans* ATCC 10231, *Microsporum canis*, *Aspergillus niger* ATCC 16404.